

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ ИМ. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

ISSN 0203-4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЕЯ



35

1990

ЭКОСИСТЕМЫ ШЕЛЬФОВЫХ ЗОН

УДК 579:574:577:1 (262.5)

Э. П. ТАРХОВА, Ю. П. КОПЫТОВ

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ И ДЕСТРУКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОПЛАНКТОНА СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БУХТЫ

По материалам ежемесячных наблюдений обобщены результаты численности пяти физиологических групп микроорганизмов, принимающих участие в деструкции основных классов органических веществ: углеводов, белков, липидов, углеводородов, фенолов, и определена их деструкционная активность. При сезонном наблюдении не удалось выявить надежной взаимосвязи между численностью и деструкционной активностью изучаемых групп микроорганизмов; эта связь достаточно сложна и требует дальнейших исследований и новых методических подходов.

С целью установления вклада микробиальной активности в формирование величины деструкционного потенциала изучаемого бассейна нами рассматривалась численность пяти физиологических групп микроорганизмов, принимающих участие в деструкции основных классов органических веществ: углеводов, белков, липидов, углеводородов и фенолов, и определялась их деструкционная активность.

Материал и методы. Пробы морской воды отбирали в течение года в стационарной точке Севастопольской бухты с поверхностного горизонта специальным однолитровым батометром, предварительно простерилизованным спиртом. Количественный учет амилотических бактерий проводили на морской воде с добавлением 2% крахмала. Общее количество гетеротрофных бактерий определяли на пептонной воде (10 г пептона на 1 л воды). Поскольку пептон является субстратом белкового характера, данная группа микроорганизмов рассматривалась нами как протеолитическая микрофлора. Учет углеводородокисляющих и липолитических бактерий проводили методом предельных разведений на минеральной среде Диановой и Ворошиловой с добавлением нефти и жира в качестве источника углерода. Наличие фенолоокисляющих микроорганизмов определяли на минеральной среде с добавлением 300 мг/л фенола. Посевы инкубировали при комнатной температуре в течение 10 дней. Численность бактерий в 1 мл морской воды устанавливали с помощью таблицы Мак-Креди.

Изучение деструкционного потенциала бактериопланктона проводили методом, описанным ранее [3], принцип которого заключается в определении скорости гидролиза в пробе морской воды за трое суток экспозиции стерильно внесенного (из расчета 20 мг/л) одного из четырех субстратов: крахмала (амилотическая потенциальная активность (ПА)), желатина (протеолитическая ПА), оливкового масла (липолитическая ПА) и отбензиненной и обессмоленной нефти (нефтеокисляющая ПА). Концентрацию субстрата в первом случае определяли с помощью реактива Люголя, во втором — модифицированным нами для морской воды методом Лоури, в третьем — реакцией на сложнэфирную связь, в четвертом — спектрофотометрически на длине волны 260 нм, где поглощаются ароматические соединения нефти. Эксперименты проводились в пробирках с притертыми пробками на 20 мл в трех повторностях. В качестве количественного выражения ПА бактериопланктона была принята величина константы скорости деструкции субстратов, рассчитанная по уравнению простой мономолекулярной

реакции 1-го порядка и выраженная в сут^{-1} : $k = \frac{1}{T} \ln \frac{C_k}{C_0}$, где T — время экспозиции, сут; C_k , C_0 — остаточная концентрация субстрата в контроле и опыте соответственно.

Активность микрофлоры в контроле подавлялась добавлением раствора сулемы. Пробы инкубировались при температуре, соответствующей *in situ* в момент отбора.

Результаты исследований. Данные количественного содержания гетеротрофных микроорганизмов, гидролизующих полисахариды (рисунок, б), показали, что общий ход развития этой группы идет с постепенным чередованием увеличения и уменьшения количественного содержания в течение года от 7,5 до 250 кл. мл⁻¹. В количественном развитии амилолитических микроорганизмов существенных колебаний не отмечено.

Незначительное увеличение изучаемой микрофлоры наблюдалось в апреле и августе; самые низкие показатели — в сентябре, ноябре (7,5 кл. мл⁻¹ морской воды). В остальные месяцы количественное содержание амилолитических бактерий составляло в среднем 125 кл. мл⁻¹.

Параллельно проводимые исследования по определению деструкционной активности амилолитической группы микроорганизмов свидетельствуют о том, что на протяжении всего периода наблюдений бактериальный распад полисахаридов в морской воде идет с наибольшей по сравнению с другими классами органических веществ (ОВ) скоростью. Так, среднегодовая величина амилолитической активности равна 0,790 сут^{-1} при варьировании скорости от 0,043 сут^{-1} в марте до 2,290 сут^{-1} в конце сентября (рисунок, б). Такой высокий деструкционный потенциал морских микроорганизмов по отношению к полисахаридам объясняется тем обстоятельством, что в результате первичного продуцирования ОВ в первую очередь синтезируются углеводы. Эти соединения являются доминирующими в составе взвешенной и растворенной органики, достигая 90% всех ОВ [2]. Отсюда можно предположить, что организмы-деструкторы в морских экосистемах обладают достаточно высокой способностью к биотрансформации соединений углеводного характера, что и наблюдалось в процессе исследований. При этом наблюдается наличие обратной связи между численностью амилолитических микроорганизмов и их деструкционной активностью. Особенно заметно эта отрицательная взаимосвязь проявилась, начиная с июля месяца и до конца наблюдений ($r = -0,63$). В этот период снижение численности изучаемых микроорганизмов сопровождалось значительным возрастанием их деструкционного потенциала, и наоборот. Следовательно, высокая численность этой физиологической группы бактерий не сопровождается такой же высокой скоростью гидролиза полисахаридов.

Обращает внимание наличие достаточно выраженной связи между температурой воды и величиной амилолитической ПА. Так, резкое воз-

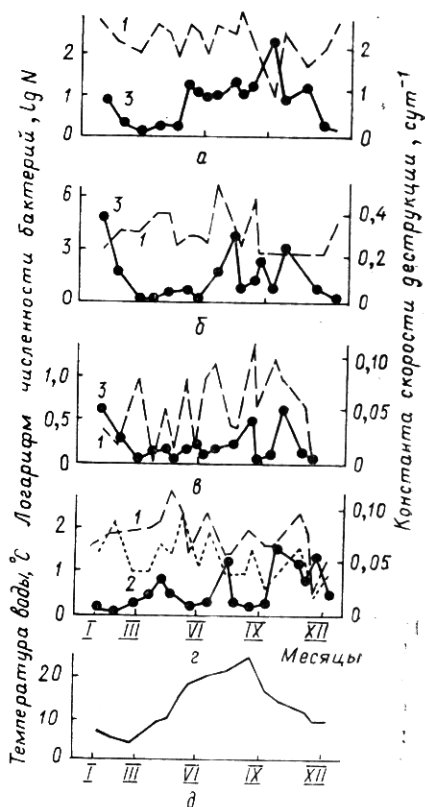


Рис. Сезонная динамика численности (1) и деструкционной активности (3) пяти групп микроорганизмов: а — амилолитических; б — липолизитических; в — нефтесодержащих (1) и фенолосодержащих (2); д — температура воды

растание скорости амилолиза наблюдалось лишь после повышения температуры воды выше $+10^{\circ}\text{C}$ в мае (см. рисунок, а, б). В ноябре при понижении температуры воды ниже $+12^{\circ}\text{C}$ было также отмечено более резкое уменьшение деструкционной активности микроорганизмов по отношению к полисахаридам. Возможно, в диапазоне между 10 и 12°C проходит нижняя критическая температурная граница, ограничивающая скорость бактериального амилолиза в морской воде.

Сезонные наблюдения численности гетеротрофных (протеолитических) микроорганизмов показали нарастание их количества в апреле. Максимум численности отмечен в летние месяцы — июле и августе (рисунок, в), что свидетельствует об увеличении в бухте легкодоступного для бактерий органического вещества; последнее может быть связано с интенсивным отмиранием фитопланктона [4]. Аналогичные результаты об увеличении количества и активизации размножения сапрофитных микроорганизмов в Севастопольской бухте в летний период были получены в работе [5]. Минимум бактериальной численности зарегистрирован в осенний период (сентябрь—ноябрь). В остальные месяцы больших колебаний плотности изучаемых бактерий не наблюдалось, количество клеток находилось в пределах 10^3 — 10^4 кл $\times$ мл^{-1} морской воды.

Протеолитическая активность бактериопланктона в среднем в восемь раз ниже амилолитической (среднегодовая величина первой равна $0,1$ сут $^{-1}$) и изменялась в пределах от нулевых значений до $0,39$ сут $^{-1}$ (рисунок, в). Такой уровень значений протеолитической ПА, с одной стороны, находится в определенном соответствии с концентрацией белковоподобных соединений в морской воде, с другой — обеспечивает достаточно быстрый оборот азота в морской экосистеме.

Четко выраженной взаимосвязи между численностью гетеротрофных микроорганизмов, выросших на пептоне, и величиной протеолитической ПА не наблюдалось, но при анализе графиков (рисунок, в) можно отметить некоторый сдвиг отдельных максимумов активности по отношению к количеству бактериальных клеток — возрастание численности протеолитических бактерий предшествовало росту их протеолитической активности.

Следует указать и на влияние температуры на протеолитическую ПА. Так, существенное увеличение скорости протеолиза пришлось на июль, когда температура воды достигла $+18^{\circ}\text{C}$, а спад активности — на октябрь, при снижении этого параметра ниже $+14^{\circ}\text{C}$.

Значительно ниже был уровень липолитической активности бактериопланктона. Так, среднегодовая величина липолитической ПА составляла $0,053$ сут $^{-1}$ при варьировании от нулевых значений до $0,050$ сут $^{-1}$ в октябре (рисунок, г). Такой относительно низкий деструкционный потенциал гетеротрофных микроорганизмов по отношению к липидам, возможно, обусловлен относительной устойчивостью последних к действию микробных энзимов, следствием чего является определенная консервативность этого класса ОБ [2]. Кроме того, на величину липолитической ПА могли оказать влияние гидрологические и экологические особенности места проведения наблюдений. Изменение величины липолитической активности на протяжении сезона носило циклический характер и в ряде случаев отражало периодичность в изменении численности липолитических микроорганизмов. Существенного влияния температуры воды на сезонную динамику скорости липолиза не выявлено.

Общая численность микроорганизмов, гидролизующих жиры и фенолы в различные сезоны года, также была невысокой. Так, в зимние месяцы число липолитических бактерий находилось в пределах 1 — 19 кл $\cdot$ мл^{-1} морской воды, фенолоксиляющих — 9 — 150 кл $\cdot$ мл^{-1} ; в летний и осенний периоды количество микроорганизмов, окисляющих жиры, насчитывало 1 — 15 кл $\cdot$ мл^{-1} морской воды, окисляющих фенолы — $2,5$ — $9,5$ кл $\cdot$ мл^{-1} .

Плотность углеводородокисляющих бактерий в поверхностном горизонте Севастопольской бухты находилось в пределах от нескольких единиц до тысячи клеток в 1 мл морской воды. Первый максимум численности отмечен в мае — 950 кл·мл⁻¹, затем идет уменьшение количества клеток, и лишь в августе и ноябре наблюдалось незначительное увеличение количественного содержания микроорганизмов этой группы. В декабре зарегистрировано минимальное число клеток бактерий, окисляющих углеводороды нефти (2,5 кл в 1 мл морской воды). В январе, феврале и марте численность нефтеокисляющих бактерий составила в среднем 75—95 кл·мл⁻¹. Максимальная численность углеводородокисляющих микроорганизмов, наблюдавшаяся в отдельные месяцы, обусловлена, по-видимому, загрязнением воды в результате судоходства.

Скорость окисления ароматических углеводородов нефти гетеротрофной микрофлорой была низкой; среднегодовая величина нефтеокисляющей ПА равнялась 0,021 сут⁻¹ при амплитуде колебаний от нуля в январе — феврале, до 0,068 сут⁻¹ в октябре (рисунок, д). Это, очевидно, является свидетельством относительно высокой устойчивости аренов к микробной атаке. Цикличность в сезонном изменении нефтеокисляющей ПА выражена более отчетливо по сравнению с липолитической ПА, однако в отличие от последней здесь в большинстве случаев просматривается обратная связь с динамикой численности нефтеокисляющих микроорганизмов.

Влияние температуры на скорость нефтеокисления, очевидно, менее существенно по сравнению с действием этого фактора на скорость деструкции рассматриваемых выше классов ОБ [1].

Таким образом, при сезонном наблюдении не удалось выявить прямой связи между численностью и деструкционной активностью изучаемых групп микроорганизмов; эта связь достаточно сложна и требует дальнейших исследований и новых методических подходов. Достаточно высокая положительная корреляция ($r=0,64$, при $p<0,1$) между динамикой численности нефте- и фенолоокисляющих микроорганизмов (рисунок, д), вероятно, указывает на совместное участие этих двух групп бактерий в деструкции углеводородного загрязнения.

1. Копытов Ю. П. Влияние температуры на скорость биodeградации нефти в морской воде // Экология моря. — 1983. — Вып. 14. — С. 75—80.
2. Романкевич Е. А. Геохимия органического вещества в океане. — М.: Наука, 1977. — 256 с.
3. Міронов О. Г., Копитов Ю. П., Цимбал І. М. Біохімічні та деструкційні показники морської води центральної Атлантики // Доп. АН УРСР. Сер. Б. Геол., хім. та біол. науки. — 1985. — № 6. — С. 28—30.
4. Сеничева М. И. Динамика популяции *Skeletonema costatum* в Севастопольской бухте // Экология моря. — 1980. — Вып. 1. — С. 11—15.
5. Шумакова Г. В. Сезонная динамика численности, биомассы и продукции бактериопланктона в Севастопольской бухте // Там же. — С. 28—32.

Ин-т биологии юж. морей

им. А. О. Ковалевского АН УССР, Севастополь

Получено 14.10.88

Е. Р. ТАРКНОВА, Ю. П. КОПУТОВ

SEASONAL DYNAMICS OF QUANTITY AND DESTRUCTION ACTIVITY OF BACTERIOPLANKTON OF THE SEVASTOPOL BAY

Summary

The data are presented on the seasonal quantity of five physiological groups of microorganisms: amylolytic, lipolytic, hydrocarbon-oxidizing, phenol-oxidizing. Their destruction activity is determined.